

العلاقة بين بنية البروتين ووظيفته

التخصص الوظيفي للبروتينات

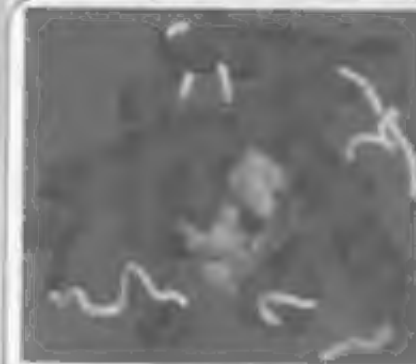
تعتبر البروتينات أهم المركبات الحيوية لبقا للأدوار الأساسية التي تقوم بها في الخلايا الحية. تتواجد في كل الخلايا الحية وفي كل أجزاءها وتؤدي أدوارا مختلفة مثل الإنزيمات وهرمونات وبروتينات النقل، المناعية، التغذية، الحركة، هرمونات... الخ. ولكل بروتين تسلسل خاص من الأحماض الأمينية يحدده توالي الرامرات في نوع الـ ARNm الذي شفر لصاقتها.

وبناءً على ذلك، وللقيام بتلك الوظائف هل قللك كل البروتينات نفس الشكل الفراغي والتركيب البنائي؟

و للاجابة عن هذا التساؤل نحقق هذه الدراسة:

مقارنة بين البنية الفراغية لبعض البروتينات

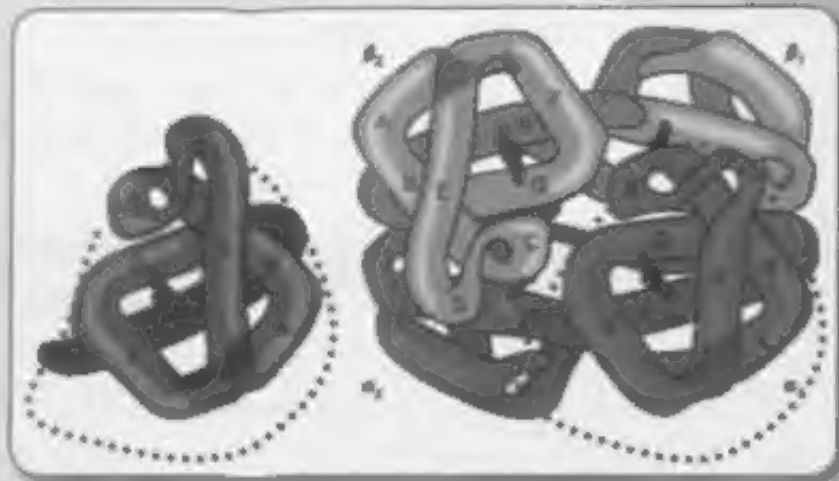
مثال : بنية ووظيفة الميوغلوبين Mb (خضاب العضلة) والهيموجلوبين Hb (خضاب الدم).



خضاب الدم العضلي



الهيموجلوبين



◀ وظيفة الميوغلوبين Mb :

مخزن للأكسجين (لوقت الحاجة) في العضلة.

◀ وظيفة الهيموجلوبين Hb :

نقل O_2 و CO_2 بين الرئتين والأنسجة.

◀ الفرق بين Mb و Hb في البنية :

Mb : يتواجد في العضلة، يتكون من سلسلة ببتيدية واحدة (بنية ثلاثية)، تحتوي على 146 حمضا أمينيا، 8 مناطق حلزونية من نوع ألفا، 7 نقاط انعطاف، محبوسة حديد واحدة، ذرة Fe واحدة له القدرة على الارتباط بحيز واحد من الأكسجين.

Hb : يتواجد في الدم (في كرات الدم الحمراء)، يتكون من 4 سلاسل ببتيدية (2 α و 2 β) كل سلسلة تشبه كثيرا Mb. يمكن القول أن Hb هو 4Mb من حيث البنية.

المقارنة بين البنى الثلاثية الأبعاد للبروتينات:

مثال : المقارنة بين الميوغلوبين والأكسولين

الأكسولين

الميوغلوبين



الأحماض الأمينية

• يوجد 20 حمضا أمينيا أساسيا تدخل في تركيب البروتينات مهما كان مصدرها (مفروس، نبات، حيوان)

• لكل حمض أميني اسم لاتيني خاص واسم مختصر مكون من الأحرف الثلاثة الأولى (لا في بعض الحالات)، ويستعمل الاسم المختصر عند كتابة الأحماض الأمينية في البروتينات.

• الجدول التالي يظهر صيغ الأحماض الأمينية وهي في حالة تعادل كهربائي (PH = 7)

متعادلة	
$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>glycine Gly</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>proline Pro</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>alanine Ala</p>	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>phenylalanine Phe</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>valine Val</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>methionine Met</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>leucine Leu</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>tryptophane Trp</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>isoleucine Ile</p>	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>asparagine Asn</p>
$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>serine Ser</p>	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>glutamine Gln</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p>threonine Thr</p>	

• ماذا تستخرج من المقارنة بين المبرغلوبيين و الهيموغلوبيين حول البنية البروتينات

• قارن بين البنيات الفراغية للمبرغلوبيين و الأمبولين من الصور المأخوذة من صريح محاكاة مثل (razmol) و الموضحة بالرسمة (41 و 42) و ماذا تستخرج حول العوامل المتحركة في تحديد البنية ثلاثية الأبعاد

الاستنتاج البنية الفراغية للبروتين

كل بروتين له بنية فراغية محددة بدقة متناهية و تركيب بدائي خاص و محدد هذه البنية هي المسؤولة عن وظيفة هذا البروتين و أي تغير في البنية الفراغية يؤدي إلى فقدان الوظيفة

بين استعمال صريح المحاكاة و الرموز أن للبروتين تركيب ثابت و توزيع محدد للذرات في الفراغ



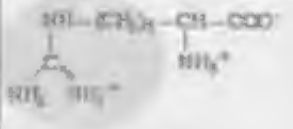
من بين القواعد الهامة في انتقاء البروتين المحب للماء مثل الهيموغلوبيين و المبرغلوبيين هو تواجد الأحماض الأمينية المحبة للماء على سطح البروتين و تواجد الأحماض الأمينية الكارهة للماء في داخل الجزيء

(أحماض أمينية محبة للماء على السطح و أحماض أمينية كارهة للماء في الداخل) و أي خلل في هذه القاعدة يؤدي إلى خلل في عمل البروتين

• التركيب الفراغي للبروتين يتحدد بتسلسل الأحماض الأمينية و طبيعة البروتين يتحدد بالتركيب الفراغي للبروتين

• لكل نوع من أنواع البروتينات تركيب خاص لا يوجد في أنواع البروتينات البروتينات

• كما أنه لكل بروتين تسلسل خاص من الأحماض الأمينية

$\text{COO}^- - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$ <p>acide aspartique ou aspartate Asp</p>	$\text{COO}^- - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$ <p>acide glutamique ou glutamate Glu</p>
$\text{HS} - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$ <p>cysteine Cys</p>	 <p>histidine His</p>
 <p>tyrosine Tyr</p>	
$\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_4 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$ <p>lysine Lys</p>	 <p>arginine Arg</p>

... انطلاقا من تحليلك المقارن للمصنع المنفصلة للأحماض الأمينية العشرين، عيّن الوظائف المميزة والمشاركة بين هذه الأحماض الأمينية.

الاستنتاج : الأحماض الأمينية

تعتبر الأحماض الأمينية أبسط الجزيئات البروتينية وهي الوحدات البنائية لبقية البروتينات. وتشتمل على مجموعة وظيفية كربوكسيلية (COOH) ومجموعة وظيفية أمينية (NH_2) يشتهر منها حاليا حوالي 20 حمضا أمينيا. يرمز للأحماض الأمينية بالصيغة العامة التالية:

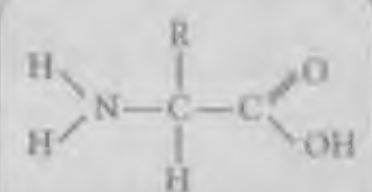
حيث :

COOH : تثل مجموعة وظيفية حمضية

NH_2 : تمثل مجموعة وظيفية أمينية (قاعدية)

R : سلسلة طرفية متغيرة حسب نوع الحمض

الأميني



... هذه طرق لتقسيم الأحماض الأمينية اعتمادا على تلك التي تعتمد على ما تحويه

السلسلة الجانبية من مجموعات قاعدية أو حامضية، وتقسّم تبعاً لذلك إلى ثلاثة أصناف أساسية :

أحماض الأمينية المتعادلة :

هذه أحماض أمينية متعادلة يكون الجذر R فيها خال من المجموعات الحمضية والأمينية وتشتمل 15 حمضا أمينيا وتقسّم بدورها إلى :

أحماض أمينية الباقية : (المعطية) : الجلوسين، الألانين، الغالين، اللوسين، الإيزولوسين.

أحماض الأمينية الكحولية (الهيدروكسيلية) : وهي أحماض أمينية متعادلة كذلك، إلا أن الجذر R- يحتوي على مجموعة هيدروكسيل (OH)، وهي : السيرين والثريونين.

أحماض الأمينية الكبريتية : يحتوي الجذر R- في هذه الأحماض على ذرة كبريت (S) وهي الميثيونين، والسيسئين.

أحماض الأمينية العطرية : يحتوي الجذر R- فيها على نواة عطرية وهي : البريتوفان، الثيروورين، الفينيل آلانين.

أحماض الأمينية الإيمينية : البرولين.

أحماض الأمينية الحامضية

وهي الأحماض التي يحتوي فيها الجذر R- على مجموعة كربوكسيلية إضافية فهي ثنائية الكربوكسيل. وتشتمل : حمض الأسبارتيك وحمض الجلوتاميك.

أحماض الأمينية القاعدية

وهي التي يحتوي فيها الجذر R- على مجموعة أمينية إضافية، وهي : الليزين، الأرجينين، والهستيدين.

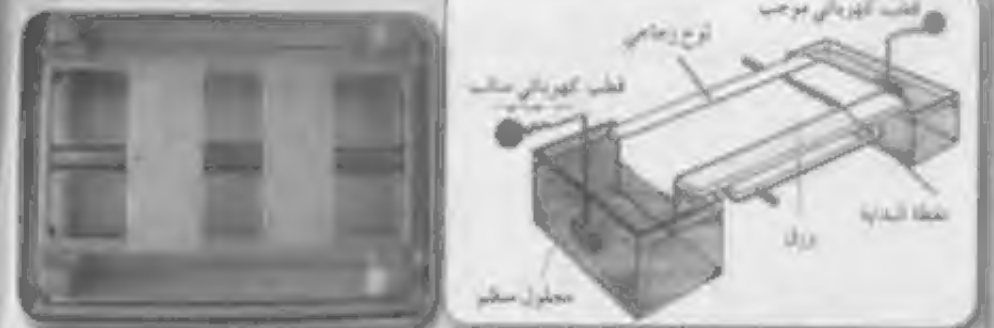
يمكن لحسم الإنسان أن يخلق عشرة من الأحماض الأمينية دون الحاجة إلى ضرورة تواجدها في الغذاء، وتوصف هذه بأنها أحماض غير ضرورية. أما العشرة أحماض أمينية الأخرى فلا بد من تولفها فيما يتناوله الإنسان من مواد غذائية لضمان سلامة بناء البروتينات في الجسم. وتوصف هذه الأحماض الأمينية بأنها ضرورية. منها اثنا عشر لآ زمان أثناء فترة النمو وهما الأرجينين Arginine والهستيدين Histidine. أما الثمانية الباقية من الأحماض الأمينية الضرورية فهي :

ليوسين Leucine، إيزوليوسين Isoleucine، ليسين Lysine، ميثيونين Methionine، فينيل آلانين Phenylalanine، ثريونين Threonine، تريبتوفان Tryptophane، فالين Valine

من خواص الأحماض الأمينية الخاصية الأمفوتيرية للأحماض الأمينية

لستعمل تقنية الهجرة الكهربائية لدراسة الخاصية الأمفوتيرية للأحماض الأمينية، حيث تسمح هذه التقنية بفصل الأحماض الأمينية الحاملة لشحنة كهربائية عن جزيئات أخرى تحمل شحنة معاكسة حيث تنافر الجزيئات الحاملة لشحنة كهربائية بعمل حقل كهربائي.

يتكون جهاز الهجرة الكهربائية من حوض يحتوي في طرفيه على عرويين تحتوي على محلول منظم و يوجد في العروة الأولى قطب كهربائي سالب وفي العروة ثالثة قطب موجب، تتصل العرويتان من طرفي جسر مكون من شريط ورق سيليل بنفس المحلول المنظم. تتم عملية الفصل بوضع نقطة من محلول الأحماض الأمينية المراد فصلها في منتصف الشريط الورقي ثم يطبق مجال كهربائي ذو فولتية عالية لمدة ساعتين بمولد كهربائي. تتحرك الأحماض الأمينية داخل المجال الكهربائي فتجذب نحو القطب ذي الشحنة المعاكسة لشحنة الجزيء وبسرعة تتناسب مع هذه الشحنة.



التركيب الحامض للهجرة الكهربائية للأحماض الأمينية ثنائية الأيون، الأيسر، القليل،

الأسف، الأيسر، القليل، الأيسر، القليل، $pH = 6$

يترك الجهاز لمدة كافية ثم يحفظ الورق و يكون بمحلولات مناسبة فتظهر لفحات تحت الجزيئات المكونة للمحيط. أما في حالة الجزيئات سالبة القطب فإنها تكون متعادلة كهربائياً وبالتالي تبقى في نفس الموضع الابتدائي إذا كان $pH_1 = pH$.
تحلل الرسم البياني نتائج فصل الأحماض الأمينية بتقنية الهجرة الكهربائية:



... تحليل النتائج المحصل عليها و علماً يمكنك استخراجها فيما يتعلق بسلوك الأحماض الأمينية في وجود محلول معدل قاعدي وفي محلول معدل حمضي وأي سلوك الأحماض الأمينية في الوسط الحمضي وفي الوسط القاعدي.

تحليل و استخراج الخاصية الأمفوتيرية

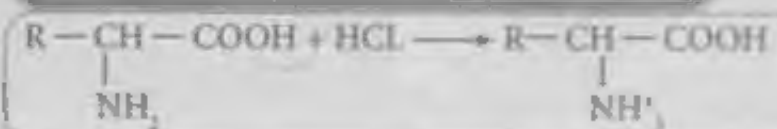
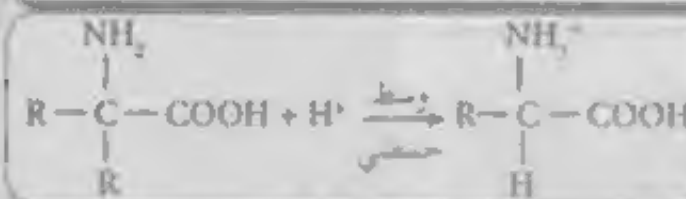
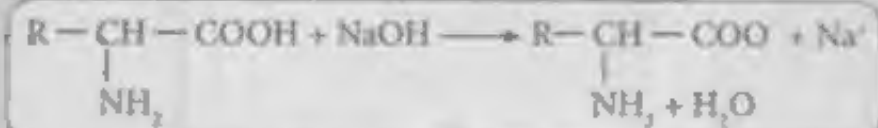
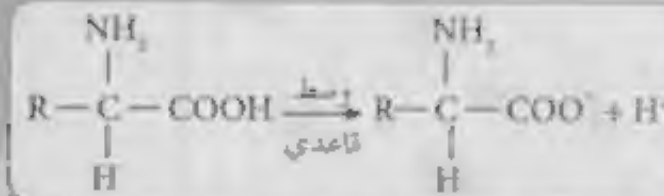
تحتوي جميع الأحماض الأمينية على الأقل وظيفتين: حامضية (كربوكسيلية) وإمينية وهي مجموعات قابلة للتأين؛
تكون الأحماض الأمينية في المحاليل ذات pH المتبادل على شكل أيون ثنائي القطب (Zwitterion)، تكون فيه:

- مجموعة الأمين موجبة الشحنة (NH_3^+) و تكون فيه مجموعة الكربوكسيل سالبة الشحنة (COO^-)
- تكون شحنة الإجمالية معدومة



تعتبر شحنة الحمض الأميني بتغير PH الوسط حيث :

- سلك سلوك الأحماض في الوسط القاعدي.
- سلك سلوك القواعد في الوسط الحمضي.
- لذلك تسمى بالمركبات الأمفوتيرية



في الوسط الحمضي تتأين الوظائف القاعدية للحمض الأميني فتكتسب شحنة موجبة.

في الوسط القاعدي تتأين الوظائف الحمضية للحمض الأميني فتكتسب شحنة سالبة.

كل حمض أميني له pH خاصة بنوع الحمض تتأين نصف الوظائف القاعدية ونصف الوظائف الحمضية ، أي أن عدد الشحنات السالبة يساوي عدد الشحنات الموجبة وبالتالي

يسمى الـ PH الموفق لهذه الحالة بنقطة التعادل الكهربائي و يرمز لها بالـ :
.. (PHI (PH Isoelectrique

لكل حمض أميني نقطة تعادل كهربائي خاصة به

الحمض الأميني	رمز الحمض بثلاثة أحرف	PHI
Alanine	Ala	6.0
Arginine	Arg	10.8
Asparagine	Asn	5.4
Aspartic acid	Asp	3.0
Cysteine	Cys	5.0
Glutamic acid	Glu	3.2
Glutamine	Glu	5.7
Glycine	Gly	6.0
Histidine	His	7.6
Isoleucine	Ile	6.1
Leucine	Leu	6.0
Lysine	Lys	9.8
Methionine	Met	5.8
Phenylalanine	Phe	5.5
Proline	Pro	6.3
Serine	Ser	5.7
Threonine	Thr	6.5
Tryptophan	Trp	5.9
Tyrosine	Tyr	5.7
Valine	Val	6.0

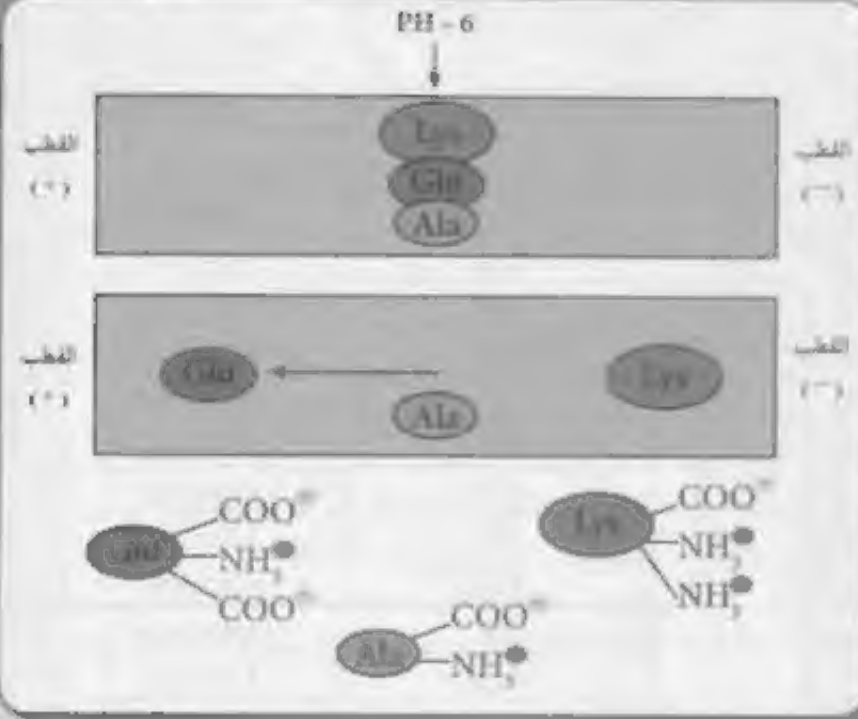
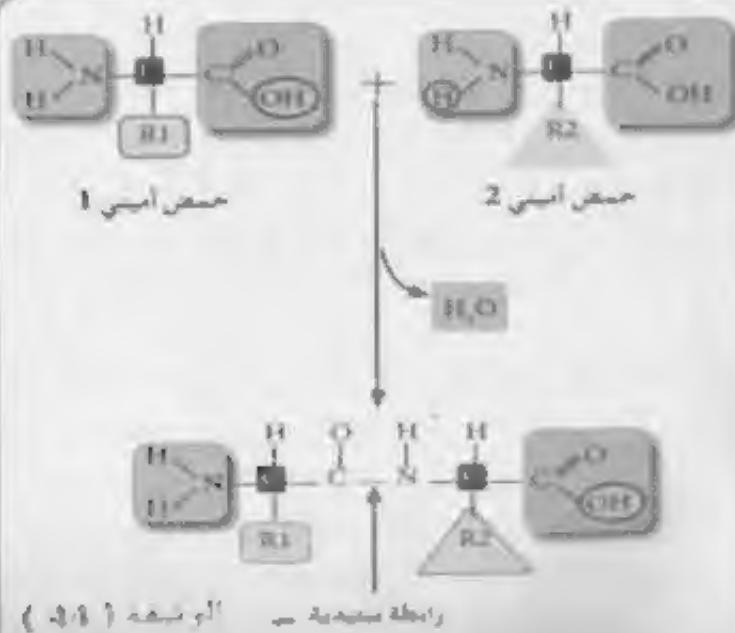
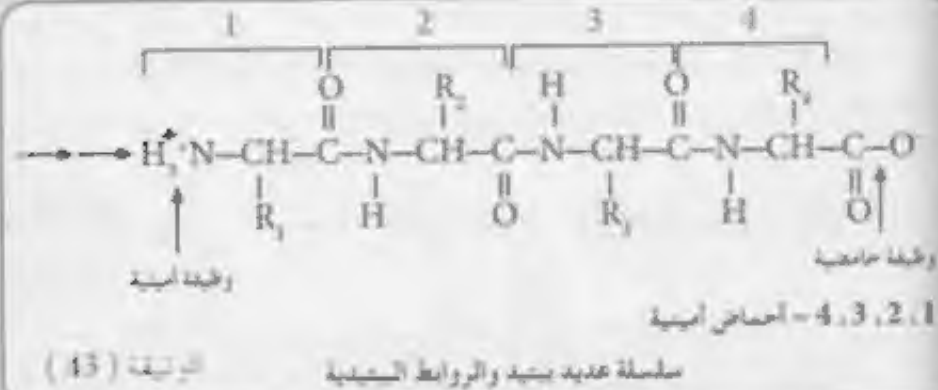
إذا كان PH الوسط أكثر حموضة من PHI الحمض الأميني حيث يتشبع الوسط بالبروتونات و بذلك تتأين الوظائف الأمينية.

إذا كان PH الوسط أكثر قاعدية من PHI الحمض الأميني ، حيث الوسط مشبع بالهيدروكسيل يحدث هناك تحرير للبروتونات و بذلك تتأين الوظائف الحمضية.

في المثال السابق للمقارنة بين الهجرة الكهربائية للأحماض الأمينية الثلاثة : ALA, GLU, GLY

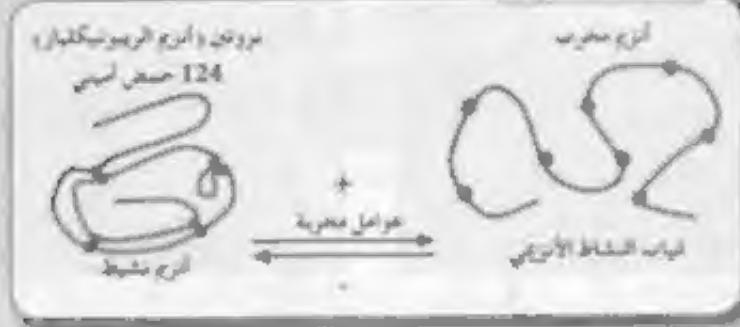
الرابطية البيتيديّة

أحدنا في مرحلة الترجمة لتصلح البروتين العلاقة الناشئة بين الأحماض الأمينية حيث يتم الأحماض الأمينية إلى بعضها فتشكل هيدروجين البيتيدي و يعبر عن ذلك بأن الأحماض الأمينية ترتبط مع بعضها برابطة بيديدية و هي رابطة تكافؤية ، و تقول عن رابطة أميها رابطة تكافؤية إذا اشتركت ذرتين بثلاثية الكترونية، بحيث تقدم كل ذرة إلكترونات حرة من تحتها السطحية. و هي الوثيقة (4.3) الروابط البيتيديّة في سلسلة عديدة البيتيدي .



- الحمض الأميني ALA | تحركه في المجال الكهربائي معدوم لأن $\text{pH} \approx 6$ الأولي = دواء
- الحمض الأميني GLU: تحركه في المجال الكهربائي ثم نحو القطب الموجب فهو مشحون بالسالب و بالتالي فهو سلك سلوك الحمض في هذا الوسط ذو $\text{pH} \approx 6$ لأن $\text{pH} \approx 3.2$
- الحمض الأميني LYS: تحركه في المجال الكهربائي ثم نحو القطب السالب فهو مشحون بالموجب و بالتالي فهو سلك سلوك القاعدة في هذا الوسط ذو $\text{pH} \approx 6$ لأن $\text{pH} \approx 9.8$

الوثيقة (44)



في خطوة ثالثة و بعد المعاملة بالمحررات بمعدل الأنزيم عن هذه المحررات و لكن يضاف إليه مركب اليوريا ، يلاحظ أن الأنزيم لا يستعيد نشاطه رغم عودة الجسور ثنائية الكبريت.

من تحليل هذه النتائج التجريبية استخرج العلاقة بين البنية الثلاثية الأبعاد والتخصص الوظيفي للبروتينات

الاستنتاج

إضافة إلى الروابط الببتيدية التي تميز البنية الأولية للبروتينات تظهر روابط جديدة تحافظ بها التركيب البنيائي الثالثي للبروتين ثلاثي الأبعاد على ثباته. أغلب الروابط التي تحافظ على هذا التركيب الفراغي هي روابط ضعيفة و غير تساهمية أهمها:

- 1- الجسور ثنائية الكبريت الناتجة عن ارتباط حزمتين من حمض السنتي.
- 2- الروابط الملحية (الشاردية) الناتجة عن تجاذب الشحنات المتعاكسة الموجودة على السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية القاعدية و الحمضية.
- 3- الروابط الهيدروجينية الناتجة عن بعض المجموعات في السلاسل الجانبية.
- 4- الروابط الكارهة للماء: تجاذب السلاسل الكارهة للماء مثل السلاسل الجانبية لـ Phe, Ile, Leu.

استخرج كيفية تشكيل الرابطة الببتيدية بين حمض أميني و آخر انطلاقا مما تقدمه الوثيقة (44) و مفهوم الرابطة التكافؤية.

الاستنتاج: الرابطة الببتيدية

لتحيد الأحماض الأمينية مع بعضها البعض لتكوين المركب البروتيني يبدأ ذلك بتفاعل حمضين أميين معا لتكوين ما يسمى "ثنائي الببتيد" Dipeptide ويشتمل ذلك على تفاعل بين المجموعة الأمينية لحمض أميني مع مجموعة الكربوكسيل لحمض أميني آخر و خروج جزيء ماء ، و تعرف الرابطة الناشئة بين الحزمتين الأميين باسم الرابطة الببتيدية ، وارتباط المزيد من الأحماض الأمينية ينتج لدينا عديد الببتيد polypeptide الذي قد يشتمل على حوالي مائة حمض أميني و بذلك يبدأ الحديث عن بنية البروتين.

العلاقة بين البنية الفراغية و التخصص الوظيفي للبروتين

من المعلوم أن بنية البروتينات بعد عملية الترجمة تأخذ شكلا ثلاثي الأبعاد و قد بينت الدراسة أن أغلب البروتينات الوظيفية كالأنتيمات و الهرمونات و البروتينات الناقلة تتخذ مثل هذا الشكل ، فهل لهذا الشكل علاقة بالوظيفة ، و لدراسة هذه العلاقة قدم العالم Anfinsen هذه التجربة :

استعمل Anfinsen أنزيم الريبونوكلياز (أنزيم مذكرك للـ ARN) الذي يتكون من سلسلة ببتيدية ذات 124 حمض أميني ، من بين الـ 124 حمض أميني هناك 8 حموض أمينية هي الستة التي تشكل 4 جسور ثنائية الكبريت كما يبدو في الوثيقة (45) هذه الروابط ثنائية الكبريت التي تدخل في الحفاظ على إبطاء السلسلة وبالتالي على بنية ثنائية ناتجة عن التداخل المتبادل الأساسية من الوسط الخلوي و إنشائها حسب الأبعاد الثلاثة في الفراغ.

أصبح Anfinsen في خطوة أولى الأنزيم لمعاملة بموامل محيرة وخاصة مركب اليوريا التي تمنع الإبطاء و β مركب اليوريا الذي يعمل على تفكيك الجسور لثنائية الكبريت الوثيقة (45)

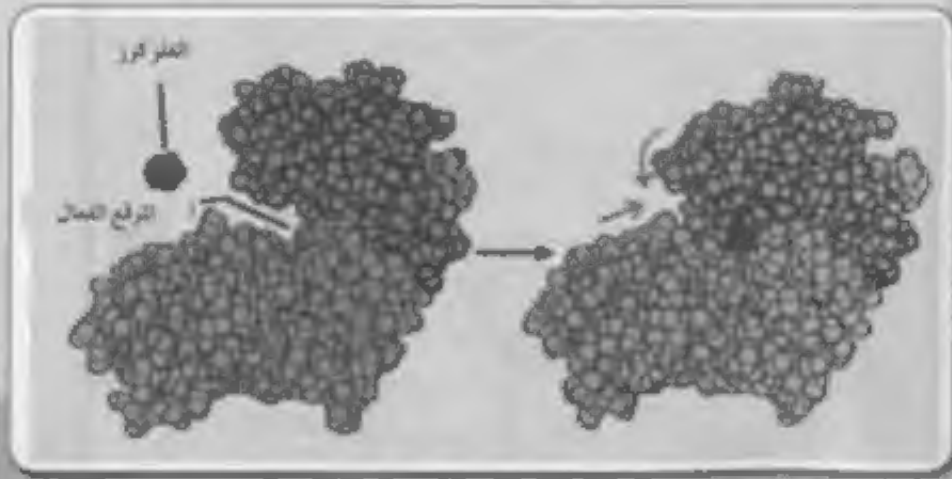
بعد المعاملة لاحظ أن الأنزيم فقد نشاطه (حيث لا تستطيع إعادة الـ ARN) في خطوة ثانية بمعدل الأنزيم من الموامل المحيرة فلاحظ أن الأنزيم يستعيد نشاطه الطبيعي

الوحدة التعليمية الثالثة النشاط الأنزيمي

ترتبط الحياة في الكائنات الحية بحدوث التفاعلات الكيميائية المرتبطة بالأنشطة الحيوية مثل التنفس والهضم والإخراج والحركة والتركيب الضوئي وغير ذلك. وتحتاج هذه التفاعلات إلى وجود الإنزيمات.

والإنزيمات مركبات بروتينية تعمل على إتمام التفاعلات الكيميائية في الكائنات الحية. وبدون الإنزيمات تسير هذه التفاعلات ببطء شديد أقرب إلى التوقف.

وتجدر الإشارة إلى أن الخلية الحية - التي قطرها في حدود 20 ميكرومتر فقط - يحدث داخلها حوالي 1000 تفاعل كيميائي مختلف، ويرجع الفضل في تنظيم هذه التفاعلات إلى الإنزيمات التي يتحكم كل منها في تفاعل معين. وهناك أيضا إنزيمات تعمل خارج الخلايا مثل تلك التي تقوم بهضم الطعام في تجويف كل من الفم والمعدة والأمعاء.



لأنه نتيجة الطاقة المتوفرة لتثبيت كل بروتين، بموجب ترتيبه للتحفيز في الأحماض الأمينية. ويجب أن يؤكد أن البروتينات ليست في حالة ثابتة ولكنها في حالة ديناميكية بإمكانها أن تتغير من حيثها أثناء أداءها لوظيفتها الفسيولوجية. بالإضافة إلى ذلك فإن المجموعات الخاصة ببعض الأحماض الأمينية (المختلطة) التي توجد على سطح البروتين لها حرية الحركة بدرجة محسوسة وذلك خلال للذوبان الذي يحدث بها.